

Tissue Engineering Möglichkeiten und Perspektiven

Scheper, Thomas
Kasper, Cornelia

Veröffentlicht in:
Jahrbuch 2005 der Braunschweigischen
Wissenschaftlichen Gesellschaft, S.37-44



J. Cramer Verlag, Braunschweig

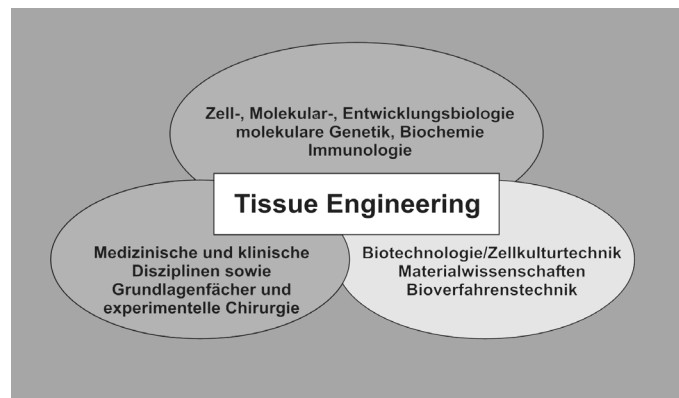
Tissue Engineering Möglichkeiten und Perspektiven*

THOMAS SCHEPER & CORNELIA KASPER

Institut für Technische Chemie, Universität Hannover
Callinstr. 3, D-30167 Hannover

Einleitung

Tissue Engineering ist ein vergleichsweise “junges”, stark inter- und transdisziplinäres Wissenschaftsgebiet. Große Entwicklungsschritte sind innerhalb der letzten 15 bis 20 Jahre auf diesem Gebiet vollbracht worden. Zur Rekonstruktion von Ersatzgeweben und -organen mit den Methoden des Tissue Engineerings ist ein Zusammenwirken verschiedener Disziplinen aus Ingenieur-, Material- und Lebenswissenschaften (Biologie, Chemie, Medizin) erforderlich.

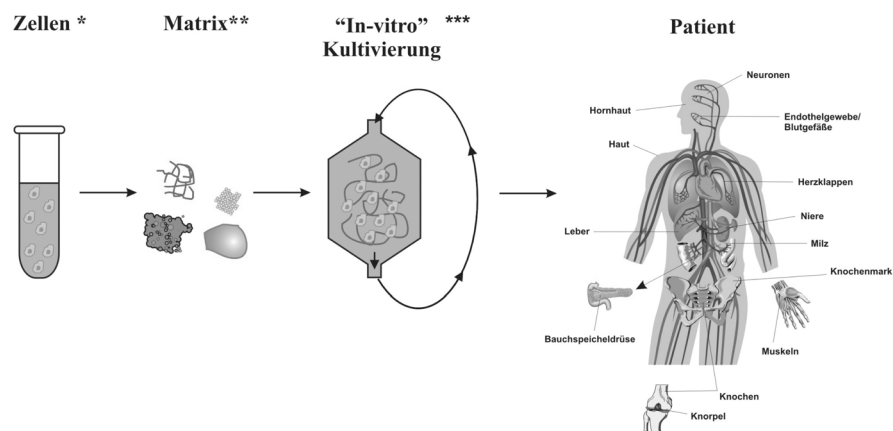


Tissue Engineering ist ein interdisziplinäres Forschungsgebiet.

Das Prinzip des Tissue Engineering beruht darauf, dem Patienten Körperzellen zu entnehmen, diese außerhalb des Körpers (extracorporal) zu züchten und nach erfolgter Vermehrung diese dem Patienten zu reimplantieren. Für die erfolgreiche Vermehrung der meisten Gewebezellen ist der Einsatz einer Matrix nötig.

* Vortrag gehalten am 11.02.2005 vor der Plenarversammlung der Braunschweigischen Wissenschaftlichen Gesellschaft.

Im Idealfall sollten die Zellen vom Patienten selbst stammen (autologe Zellen), denn so wird eine Abstoßungsreaktion des Körpers nach Reimplantation vermieden. Gewebedefekte können so mit gezüchteten körpereigenen Zellen repariert bzw. gefüllt werden ohne langfristig auf künstliche Materialien oder Transplantate angewiesen zu sein. Weitere Vorteile sind ein Organersatz zu jedem Zeitpunkt und dadurch planbare Operationen sowie die Transplantation von nicht abstoßungsgefährdetem körpereigenen Gewebe.



- * Gewebezellen, Stammzellen oder embryonale Stammzellen (autolog oder allogene)
- ** Natürlich, synthetisch oder xenogen (Fasern, Hydrogel, Kapseln)
- *** statisch, unter Rühren oder dynamische Fließbedingungen

Prinzip des Tissue Engineering; Zellen werden unter Zuhilfenahme von Matrixstrukturen im Labor unter geeigneten Bedingungen künstlich gezüchtet

Methoden und Strategien im Tissue Engineering

Die Methodik, die beim Tissue Engineering verfolgt wird, kann in drei Ansätze untergliedert werden:

1. *in-vitro* Kultivierung autologer/allogener Zellen auf organischen, synthetischen oder natürlichen Matrices
2. *in-vitro* Kultivierung autologer/allogener Zellen auf xenogenen Matrices
3. *in-vitro* Kultivierung von embryonalen Stammzellen

Bei allen drei Ansätzen werden die Zellen auf verschiedenen Trägermaterialien gezüchtet. Dies ist notwendig, da Gewebezellen eine Matrixstruktur zum Wachsen benötigen. Im Organismus übernimmt die Rolle dieser natürlichen Träger-

struktur die sogenannte extrazelluläre Matrix (ECM), eine von den Zellen selbst produziertes komplexes Netzwerk verschiedener Biomoleküle (Oligo/Polysaccharide, Proteine u.a.). Diese ECM sorgt dafür, dass die Zellen sich korrekt entwickeln. Bei der künstlichen Erzeugung von Geweben werden biokompatible Materialien eingesetzt, die natürlichen (auch tierischen) Ursprungs oder synthetisch erzeugt sein können. Zu der ersten Gruppen zählen vor allem Chitosane, Hydrogele (z.B. Alginate) und andere Polysaccharide, Polymilchzucker (Polylactide) und mineralische Träger wie Calciumphosphate. Bei der zweiten Gruppe der xenogenen Trägerstrukturen finden vor allem „Material“ aus dem Schwein und Rind Anwendung. Hierzu werden die Zellen des Spendergewebes entfernt, so dass nur noch das Matrixgerüst zurückbleibt. Dieses wird dann mit Zellen besiedelt. Wie bei der Xenotransplantation ist aufgrund der potentiellen Gefahr der Übertragung von Infektionserregern (vor allem so genannte endogene Viren) dieser Ansatz jedoch immer wieder in der Diskussion.

Als „Zellquellen“ können gewebespezifische Zellen (primäre Zellen) oder auch Stammzellen eingesetzt werden. Bei den gewebespezifischen Zellen stammen diese idealerweise vom Patienten selbst, sog. autologe (adulte) Zellen. Hierdurch können Komplikationen durch Abstoßungsreaktionen umgangen werden. Bei Anwendung von Spenderzellen (allogen) muss nach erfolgter Transplantation des künstlich generierten Gewebes die Abstoßungsgefahr durch medikamentöse Behandlung unterdrückt werden (Immunsuppression).

Abhängig vom benötigten Zielgewebe, werden heute zwei Strategien des Tissue Engineering verfolgt:

- Offene Systeme
- abgeschlossene Systeme

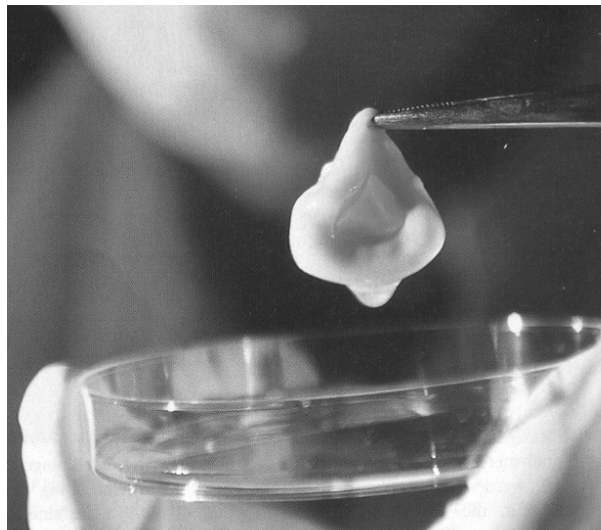
Für diese Strategien soll nun exemplarisch ein Beispiel gegeben werden. Hierbei beschränken wir uns auf Anwendungen, bei denen autologe Zellen verwendet werden.

Unter einem offenen System versteht man die Züchtung von Zellen auf einer Matrix oder einem bio-abbaubaren Gerüst (natürlich oder synthetisch). Die meisten Entwicklungen basieren auf diesem Ansatz. Eine Anwendung hierfür wäre der Hautersatz (Infokasten 4) für z.B. schwerstverbannte Opfer. Haut als Gewebe ist vergleichsweise „einfach“ zu züchten und gehört somit auch zu den ersten Gewebetypen, die künstlich hergestellt und klinisch eingesetzt wurden. Allerdings besteht bis heute das Problem, dass die durch Tissue Engineering gewonnene Haut die ursprünglichen Funktionen wie Schweißabsonderung oder auch natürlichen Haarwuchs noch nicht erreicht werden können.

Ein weiteres Beispiel ist die autologe Knorpelzelltransplantation (ACT). Diese Form der Therapie kommt vor allem bei Knorpelschäden im Kniegelenk und an den Bandscheiben zum Einsatz. Streng genommen gehört diese Anwendung

eher zu den Zelltherapien, denn die Zellen werden bisher ohne Stützgerüst gezüchtet und nach Vermehrung dem Patienten implantiert. Allerdings wird derzeit auch daran gearbeitet, diese Knorpelzellen zunächst auf einem geeigneten Material (Kollagen) zu vermehren, das erhaltene Konstrukt besitzt eine größere mechanische Stabilität und wird für den Einsatz bei Meniskusschäden untersucht.

Ein weiteres interessantes und wichtiges Beispiel ist die Züchtung von Herzklappenzellen auf einer Klappenmatrix aus dem Rind oder Schaf (xenogene Matrix).



Künstliche Herzklappe: Die Trägerstruktur wurde aus dem Schaf isoliert und nach Entfernen sämtlicher Zellen mit menschlichen Zellen besiedelt
(Mit freundlicher Genehmigung von Herrn Prof. Augustinus Bader, Universität Leipzig, Institut für Zelltechniken und angewandte Stammzellbiologie)

Künstliche Herzklappen werden vielfach bei Kindern mit angeborenen Herzklappenfehlern benötigt. Bisher eingesetzte künstliche Klappen aus Metall oder anderen starren Materialien haben zwar die nötige Stabilität, wachsen aber nicht mit dem Patienten, was gerade bei Kindern eine wesentliche Anforderung ist. Durch den Einsatz von mitwachsenden Klappen könnten Kindern schwierige und risikoreiche (und auch kostenintensive) Operationen erspart werden.

Ein Beispiel für ein abgeschlossenes System ist z.B. der Einsatz der so genannten "künstlichen Leber". Hierbei werden Leberzellen (z.B. aus einer Schweine-

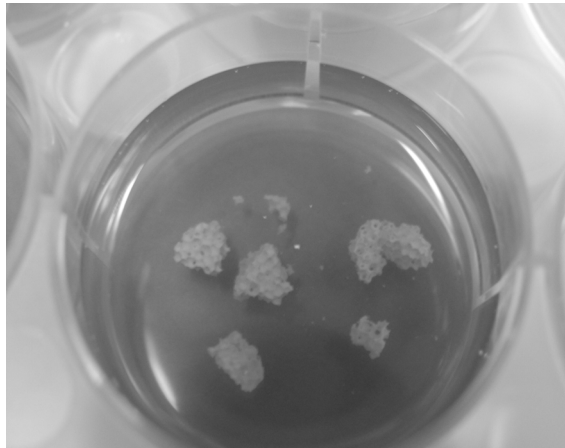
leber oder auch humane Leberzellen) in einem Kultursystem extrakorporal gezüchtet und das Patientenblut ähnlich wie bei der Dialyse ("künstliche Niere", bei der Dialyse werden allerdings keine Zellen eingesetzt) durch dieses System geleitet werden bevor es zurück in den Patienten verbracht wird. So kann das Blut beim Durchfließen des Systems von Schadstoffen befreit werden. Heute wird diese Art Lebersystem schon klinisch eingesetzt um z.B. Patienten am Leben zu erhalten bis eine Spenderleber vorhanden ist oder so lange bis eine geschädigte bzw. verletzte Leber sich regeneriert hat. Dies ist nur möglich, da die Leber ein großes Potenzial zur Selbstregeneration hat. Die Leberzellen allerdings nur eine sehr begrenzte Leistungsfähigkeit innerhalb dieses Systems. Es wird angenommen, dass die Zellen unter diesen Bedingungen ihre spezielle Differenzierung als Leberzelle mit ihren Funktionalitäten verliert. Darüber hinaus wird auch bereits ein System als „Leberersatz“ beschrieben, welches zellfrei und nur unter Einsatz spezieller Membranen arbeitet [1].

Eine dritte Strategie wird z.B. beim Ersatz von Blutstammzellen eingesetzt. Hierbei handelt es sich um die direkte Injektion von Zellen in den Patienten nach erfolgter Vermehrung der Zielzellen. Als ein Einsatzgebiet ist die Therapie bei Leukämie-Patienten zu nennen. Aus dem Knochenmark werden vor der Chemotherapie und/oder Bestrahlung mesenchymale Stammzellen gewonnen und vermehrt; nach Abschluss der Therapie können die Zellen dem Patienten verabreicht werden. Diese Form der Therapie zählt nicht direkt zum Tissue Engineering, es handelt sich hierbei um eine Zelltherapie.

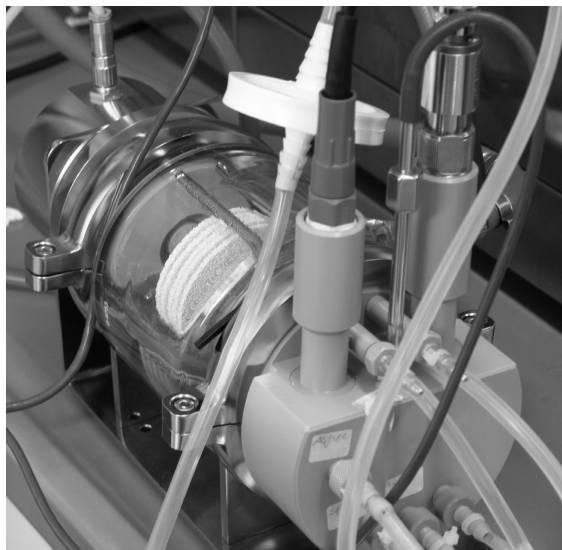
Wo ist der Bezug zur Technischen Chemie?

Die bisher geschilderten Entwicklungen vermitteln den Eindruck, das Tissue Engineering wäre ein ausschließlich sehr medizinisch-chirurgisch und zell- und molekularbiologisch geprägtes Forschungsfeld. Dennoch lassen sich eine Vielzahl von Einflüssen aus dem Bereich der Chemie erkennen. So ist die Entwicklung von geeigneten Biomaterialien vor allem durch Chemiker der makromolekularen und Polymerchemie geprägt. Darüber hinaus kommen viele Biowerkstoffe auch aus den Labors der Anorganischen und Organischen Chemiker [2]. Die Techniken und Geräte, die im Bereich der physikalischen Chemie Einsatz finden, liefern wertvolle Beiträge zur Charakterisierung dieser Biomaterialien.

Technische Chemiker bearbeiten sich heute neben den eher „klassischen“ Themen auch Fragen zur Entwicklung optimaler Bioprozesse und Bioreaktoren für den Einsatz von Mikroorganismen und Säugerzellen mit dem Ziel der Produktion von z.B. Biopharmazeutika, Enzymen und Impfstoffen. Darüber hinaus werden hier weitere moderne Themen der Biotechnologie – so auch das Tissue Engineering – bearbeitet. Den Fokus bildet die Verknüpfung von Erkenntnissen im Bereich der Bioreaktortechnik, der Bioprozesstechnik (Steuerung und Regelung) sowie der Kultivierungsbedingungen von Zellen [3].



Keramisches Biomaterial für die Züchtung von Knochengewebe. Das makroporöse Material besteht aus einer Basis von Kalziumphosphat und ist hier in einer Zellkulturschale mit Medium gezeigt.



Bioreaktor für die Züchtung von künstlichen Gewebe (Biostat RBS, Zellwerk GmbH, Eichstätt). Das Biomaterial ist in diesem Drehbettreaktor auf einer Welle aufgebracht und wird langsam rotiert, so dass die mit Zellen besiedelten Scheiben in das Zellkulturmedium eintauchen. Der Reaktorraum ist für die Temperierung mit einem Glasgehäuse ummantelt. Erkennbar sind auch zahlreiche Versorgungsanschlüsse und Sonden zur Kontrolle und Steuerung von z.B. pH-Wert und Sauerstoffzufuhr.

Limitierungen beim Tissue Engineering

Sicher werden nicht alle Erwartungen und Hoffnungen, die an das Tissue Engineering geknüpft werden, tatsächlich erfüllt.

Das Hauptproblem beim der Züchtung künstlicher Gewebe ist die Sicherstellung der Erhaltung der Differenzierung der Zellen. Nur so kann das neue Gewebe/Organ seine Funktionen korrekt erfüllen. Die Gewährleistung der Aufrechterhaltung physiologischer Parameter ist oft nur durch Schaffung komplexer organotypischer Kultivierungsverfahren möglich. Hierzu zählen die ausreichende Versorgung der Zellen (mit z.B. Sauerstoff, Wachstumsfaktoren und Nährstoffen) sowie die Eliminierung von schädlichen Metaboliten. Hierzu wird vor allem intensiv daran geforscht, wie eine Versorgung durch z.B. das Einwachsen von Blutgefäßen die Gewebe (Vaskularisierung) ermöglicht werden kann. Ein weiteres Problem stellt die Verfügbarkeit ausreichender Gewebemengen dar. Die Isolierung von primären Zellen ist aufwendig und die resultierenden Zellen nur begrenzt kultivierbar. Darüber hinaus beeinträchtigen die Langzeitkultivierungsbedingungen von ausdifferenzierten Zellen ihr Wachstum und sind somit für die Gewinnung großer Zellmengen nur bedingt geeignet. Ein weiterer Faktor ist in jüngerer Zeit erkannt worden; die meisten Zellen müssen zur Sicherstellung vollständiger Differenzierung und Funktionalität während der Kultivierung einem physiologischen Stress ausgesetzt werden (z.B. Druck- oder Zugbelastung). Dieses ist verständlich wenn man sich vorstellt, welchen Belastungen Herzklappen oder auch Knochen- und Knorpelgewebe im Körper ausgesetzt sind. Somit wird auch daran geforscht entsprechende Konditionierungsbedingungen in den Kulturgehaltern zu gewährleisten.

Perspektiven

Es werden heute enorme Fortschritte in der Entwicklung geeigneter Kultivierungssysteme und Optimierung der Kultivierungsbedingungen gemacht. Es bleiben dennoch viele Fragen unbeantwortet und zahlreiche Probleme bisher ungelöst. Das Tissue Engineering ist eine Zukunftswissenschaft mit weitreichendem Potenzial. Besondere Bedeutung erlangen hier vor allem die neurodegenerativen Erkrankungen wie Morbus Alzheimer und Morbus Parkinson sowie Erkrankungen der inneren Organe (z.B. Leber) und des Stützapparates (Knochen und Knorpel). Darüber hinaus können Gewebeverbände und Organsysteme geschaffen werden, die dazu eingesetzt werden um z.B. Tierversuche zu vermeiden, denn viele Tests (*in vitro* Testung von Pharmaka in Zellkultur) können direkt an den entsprechenden Zellverbänden durchgeführt werden. Die Probleme der Speziesextrapolation (Übertragungsproblem der Medikamentenwirkung aus dem Tiermodell auf den Menschen) werden dadurch umgangen.

Diese Entwicklungen des Tissue Engineering hat ein enormes Potenzial; internationalen Voraussagen nach wird der „Gewebeingenieur“ als eine der Top-Berufsperspektiven der nächsten 10-20 Jahre angesehen (Time Magazin). Durch die Entwicklungen des Tissue Engineering wird eine neue Ära für die Lebenswissenschaften und die Medizin eingeleitet.

Literatur

- [1] MARS Molecular adsorbens recirculation System: Firma Teraklin Rostock <http://www.teraklin.com/>
- [2] SCHÜGERL, K.: Bioreaktionstechnik: Bioprozesse mit Mikroorganismen und Zellen-Prozeßüberwachung. Birkhäuser Verlag, Basel, Boston, Berlin (1997)
- [3] EPPLER, M.: Biomaterialien und Biomineralisation. Teubner Studienbücher Chemie, Teubner Verlag, Wiesbaden (2003)